

27. Recherches sur la biochimie des cyclitols IX

Contribution à l'étude du métabolisme du *ms*-inositol chez le Rat II [1]

par E. Charollais et Th. Posternak

(22 XII 64)

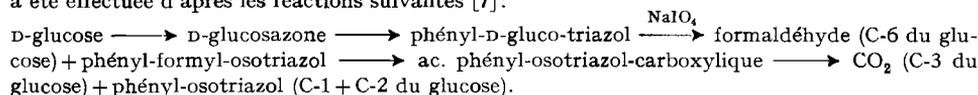
Le métabolisme du *ms*-inositol (I) chez le Rat a donné lieu à diverses études. Des recherches au moyen de cyclitol marqué par du ^3H [2] et du ^{14}C [3] avaient permis de préciser le mécanisme de la conversion de l'inositol en D-glucose. Par l'emploi de [^{14}C]-inositol, on avait montré, d'autre part, qu'à côté de cette glucogenèse, il se produit chez le Rat normal une conversion importante en CO_2 [4] [5]. Une petite partie du cyclitol est en outre incorporée dans les phospholipides. Le but du présent travail était d'étudier chez l'animal normal ou phloriziné les relations existant entre la formation de CO_2 et la glucogenèse, et de préciser certains mécanismes.

Méthodes expérimentales et résultats. — *Substances radioactives:* *ms*-inositol-[U- ^{14}C] (uniformément marqué) fourni par le RADIOCHEMICAL CENTRE, Amersham; *ms*-inositol-[2- ^{14}C] synthétisé par les méthodes décrites précédemment [6].

Administration des substances: Les rendements radioactifs en CO_2 étant notablement plus élevés chez le Rat à jeun, nous avons utilisé des animaux mâles de 135 à 370 g, soumis à un jeûne de 24 h. Le traitement des animaux par la phlorizine et l'administration d'inositol en 3 injections ont été effectués comme précédemment [2]; les temps en h indiqués dans les tableaux sont comptés à partir de la première injection.

Les animaux étaient placés dans des cages à métabolisme parcourues par un courant d'air décarbonaté. Le CO_2 expiré recueilli dans KOH 1,5N était ensuite précipité comme BaCO_3 . Le glucose urinaire a été isolé comme glucosazone.

Dégradation du glucose: Cette dégradation, en vue d'établir la répartition de la radioactivité, a été effectuée d'après les réactions suivantes [7]:



Résultats: Les tableaux suivants résument les observations effectuées.

Tableau I. Formation de $^{14}\text{CO}_2$ à partir d'inositol-[^{14}C] chez le Rat non phloriziné, après un jeûne de 24 h

| Heures | Nos des rats et % d'incorporation radioact. dans le CO_2 expiré | | | | |
|------------|--|---------|---|---------|---------|
| | Inositol-[2- ^{14}C] (292000 c/min/mg) | | Inositol-[U- ^{14}C] (329000 c/min/mg) | | |
| 0-8 | 1: 24,3 | 2: 27,3 | 3: 22,2 | 4: 33,5 | 5: 23,9 |
| 8-16 | 6,5 | 6,0 | 4,4 | 3,1 | 6,3 |
| 16-24 | 2,0 | 1,5 | 2,2 | 3,0 | 3,2 |
| Total 24 h | 32,8 | 34,8 | 28,8 | 39,6 | 33,4 |

Poids des rats et radioact. adm. en c/min: 1: 355 g et $2,92 \cdot 10^6$; 2: 370 g et $3,79 \cdot 10^6$; 3: 275 g et $3,29 \cdot 10^6$; 4: 290 g et $3,29 \cdot 10^6$; 5: 290 g et $3,29 \cdot 10^6$.

Tableau II. Radioactivité et répartition isotopique dans le glucose urinaire après administration d'inositol-[2-¹⁴C] (16,4 et 24,5 mg) à des rats phlorizinés après un jeûne de 24 h

| Heures | N° du rat | Glucose urinaire en mg | Répartition isotopique en % dans le glucose | | | |
|--------|-----------|------------------------|---|-----|-----------|------|
| | | | C-1 + C-2 | C-3 | C-4 + C-5 | C-6 |
| 0-8 | 6 | 288 | 32,6 | 1,4 | 10,8 | 55,2 |
| 8-16 | 6 | 360 | — | — | — | — |
| 16-24 | 6 | 288 | — | — | — | — |
| 0-24 | 7 | 1255 | 40,8 | 1,7 | 8,1 | 49,4 |

Poids des rats et radioact. adm. en c/min: 6: 350 g et $7,15 \cdot 10^6$; 7: 300 g et $7,83 \cdot 10^6$.
Radioactivité éliminée dans le glucose urinaire de 24 h: 6: 33,4%; 7: 37,2%.

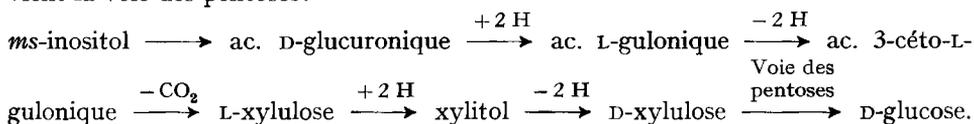
Tableau III. Radioactivité dans le CO₂ expiré et le glucose urinaire de rats phlorizinés après un jeûne de 24 h et traités par de l'inositol-[¹⁴C]

| Heures | Inositol-[2- ¹⁴ C] ¹⁾ | | | Inositol-[U- ¹⁴ C] ¹⁾ | | |
|------------|---|---------------------------------|------------|---|---------------------------------|------------|
| | CO ₂ expiré en % de rad. adm. | glucose urinaire mg % rad. adm. | | CO ₂ expiré en % de rad. adm. | glucose urinaire mg % rad. adm. | |
| 0-8 | 5,0 ± 0,7 | 202 ± 59 | 23,9 ± 1,5 | 14,7 ± 3,8 | 243 ± 65 | 16,7 ± 7,2 |
| 8-16 | 1,1 ± 0,4 | 108 ± 22 | 1,1 ± 0,2 | 1,6 ± 0,4 | 123 ± 14 | 0,7 ± 0,1 |
| 16-24 | 0,6 ± 0,2 | 97 ± 44 | 0,6 ± 0,2 | 1,0 ± 0,2 | 66 ± 33 | 0,3 ± 0,1 |
| Total 24 h | 6,7 ± 0,8 | 407 ± 125 | 25,6 ± 1,4 | 17,3 ± 4,0 | 432 ± 68 | 17,7 ± 7,1 |

Inositol-[2-¹⁴C]: nombre de rats 2; poids 167 ± 22 g; inositol adm. 14,25 ± 0,75 mg; rad. adm. $(6,80 \pm 0,36) \cdot 10^6$ c/min.

Inositol-[U-¹⁴C]: nombre de rats 4; poids 154 ± 16 g; inositol adm. 12,80 ± 3,68 mg; rad. adm. $(3,83 \pm 1,04) \cdot 10^6$ c/min.

Discussion. – Des travaux antérieurs avaient permis d'élucider le mécanisme de la conversion de l'inositol en glucose [2] [3]. Le cyclitol est d'abord converti en acide D-glucuronique, qui subit ensuite une série de transformations dans lesquelles intervient la voie des pentoses:



Faisons remarquer qu'une de ces réactions, la décarboxylation de l'acide 3-céto-gulonique, implique un dégagement de CO₂. Si l'on part de l'inositol-[2-¹⁴C], l'acide cétonique est marqué en C-2 et le CO₂ dégagé n'est pas radioactif. Nous désignons ce mode de formation de CO₂, dépendant de la glucogenèse, par A; il est catalysé par la partie soluble des enzymes de l'homogénat de rein de Rat. Il existe un autre mode de production de CO₂, que nous désignons par B; on l'observe en présence de la fraction particulière de l'homogénat de rein de Rat. RICHARDSON & AXELROD [8] avaient montré que ce 2^e mode de formation est inhibé par l'arsénite.

¹⁾ Moyenne ± écart type (standard deviation).

Notons d'abord que chez le Rat normal à jeun, l'incorporation totale de la radioactivité de l'inositol dans le glucose et ses polysaccharides est relativement peu élevée. Si l'on tient compte des teneurs en glycogène [9] et des radioactivités spécifiques observées [3] [4], ainsi que du pool du glucose actif [10] (130 mg pour 100 g d'animal) on peut évaluer cette incorporation radioactive à moins de 5%. La formation de CO₂ est donc relativement peu importante par la voie A chez le Rat normal à jeun et s'effectue essentiellement par la voie B. Le tableau I montre que les incorporations de radioactivité¹⁾ dans le CO₂ sont sensiblement les mêmes après administration d'inositol-[2-¹⁴C] (moyenne de deux animaux: 33,8 ± 1,0%) et d'inositol-[U-¹⁴C] (moyenne de trois animaux: 33,9 ± 4,4%). Ceci ne peut s'expliquer que par une *combustion complète* de la substance. Le mécanisme exact de cette dégradation suivant la voie B est encore inconnu. Par des expériences de dilution isotopique, on avait toutefois montré [8] que ni le glucose, ni le *ms*-inosose-2, ni la gulonolactone ne sont des intermédiaires, alors que la D-glucuronolactone se forme probablement au cours de la dégradation.

Le Rat phloriziné à jeun élimine en 24 h des quantités de glucose urinaire variant dans nos expériences, suivant le poids de l'animal, de 0,3 à 1,2 g. Ceci s'accompagne d'une exaltation remarquable (jusqu'à 700%) de la glucogenèse aux dépens de l'inositol. On constate en effet que l'incorporation du ¹⁴C dans ce glucose urinaire, à partir de l'inositol-[2-¹⁴C], atteint en 24 h 33-37% chez des rats adultes (tableau II) et 24-27% chez des rats plus jeunes (tableau III).

D'après la représentation de la glucogenèse à partir de l'inositol exposée plus haut, un *ms*-inositol marqué en C-2 devrait fournir de l'acide D-glucuronique marqué en C-5, et finalement il en résulterait du glucose marqué en C-6. C'est ce que nous avons constaté par l'emploi d'inositol-[2-³H]. Employant l'inositol-[2-¹⁴C], ANDERSON & COOTS [3] avaient trouvé dans le glycogène du Rat normal un marquage à peu près égal en C-1 et C-6, ce qui résulte sans doute d'un transfert isotopique de la position C-6 à la position C-1 sous l'action de la phosphotriose-isomérase et de l'aldolase (randomization). Il devenait alors intéressant d'établir chez le Rat phloriziné la répartition isotopique dans le glucose urinaire formé à partir de l'inositol-[2-¹⁴C]. Nous avons constaté (tableau II) que le glucose excrété dans les 8 premières heures, qui n'a par conséquent pas séjourné longtemps dans l'organisme, est plus fortement marqué en 6 qu'en 1 + 2, le rapport des radioactivités C-6/(C-1 + C-2) étant en effet de 1,7. Dans le glucose urinaire total de 24 h, ce rapport tombe par contre à 1,2²⁾.

Il s'agit maintenant d'expliquer l'absence de quantité notable d'isotope en C-1 dans le glucose urinaire formé à partir du *ms*-inositol-[2-³H] [2]. On pourrait l'attribuer à un ralentissement des réactions de la phosphotriose-isomérase et de l'aldolase dû à un effet isotopique. D'autre part, LOEWUS [11] a établi la configuration en C-5 du D-xylose-[5-³H] formé dans les fraises à partir du *ms*-inositol-[2-³H]. Cette configuration doit se retrouver en C-1 dans l'acide fructose-6-phosphorique formé ultérieurement; la même configuration II est sans doute présente dans le produit deutérié formé chez l'animal. Elle est l'inverse de celle que nous avons indiquée [12] pour le dérivé du fructose formé à partir de la D-glucuronolactone-[1-²H]: il doit alors se

²⁾ M. le prof. L. ANDERSON, Madison (communication personnelle) a obtenu des résultats analogues.

l'inositol. La radioactivité dans le CO_2 expiré est alors notablement plus faible après administration d'inositol-[2- ^{14}C] qu'après celle d'inositol-[U- ^{14}C]; le rendement radioactif dans le glucose urinaire est par contre plus faible à partir de l'inositol-[U- ^{14}C]. Ces faits, ainsi que les répartitions isotopiques observées dans le glucose urinaire, ont été discutés et expliqués.

Laboratoires de Chimie biologique et organique spéciale
de l'Université, Genève

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Communication préliminaire: C. r. Séances Soc. Phys. Hist. Nat. Genève, séance du 15 oct. 1964 (*Arch. Sci.* 1964, sous presse).
 - [2] TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER & D. REYMOND, *Helv.* 38, 1283, 1660 (1955); TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER, D. REYMOND & C. LARK, *Helv.* 41, 235 (1958).
 - [3] L. ANDERSON & R. H. COOTS, *Biochim. biophysic. Acta* 28, 666 (1958).
 - [4] H. HERKEN, D. MAIBAUER & F. WEYGAND, *Arch. exp. Pathol. Pharmacol.* 233, 301 (1958).
 - [5] E. A. MOSCATELLI & J. LARNER, *Arch. Biochemistry Biophysics* 80, 26 (1959); D. A. NIXON, *Nature* 187, 77 (1960).
 - [6] TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER & R. HUGUENIN, *Helv.* 40, 1875 (1957).
 - [7] R. M. HANN & C. S. HUDSON, *J. Amer. chem. Soc.* 66, 735 (1944); H. v. PECHMANN, *Liebig's Ann. Chem.* 262, 290 (1891); C. T. BISHOP, *Science* 117, 715 (1953).
 - [8] K. E. RICHARDSON & B. AXELROD, *Biophys. biochim. Acta* 32, 265 (1959).
 - [9] *Biochemisches Taschenbuch*, p. 828, Springer-Verlag, Berlin 1956.
 - [10] D. D. FELLER, E. H. STRISOWER & I. L. CHAIKOFF, *J. biol. Chemistry* 187, 571 (1950).
 - [11] F. A. LOEWUS, *Arch. Biochemistry Biophysics* 105, 590 (1964).
 - [12] TH. POSTERNAK, W. H. SCHOPFER & E. CHAROLLAIS, *Helv.* 43, 1980 (1960).
 - [13] J. KATZ, S. ABRAHAM, R. HILL & I. L. CHAIKOFF, *J. biol. Chemistry* 214, 853 (1956).
-